

PERBEDAAN KADAR KALSIUM PADA SERUM LIPEMIK DENGAN DAN TANPA PENAMBAHAN FLOKULAN GAMMA-SIKLODEKSTRIN INKUBASI SUHU 23 °C

Rosenadia Fitri Andafi Niranata¹, Sistiyono², Budi Setiawan³

Poltekkes Kemenkes Yogyakarta

email: rniranata@gmail.com

ABSTRAK

Serum lipemik merupakan serum berwarna keruh yang secara prinsip disebabkan oleh partikel besar lipoprotein seperti *chylomicrons*, VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) maupun trigliserida. Serum lipemik umumnya dapat dikenali ketika kadar trigliserida di atas 300 mg/dl. Kekeruhan tersebut mengganggu absorbansi atau penghamburan cahaya pada berbagai pemeriksaan spektrofotometri. Gangguan ini dapat diatasi dengan flokulasi menggunakan gamma-siklodekstrin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar kalsium pada serum lipemik dengan dan tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode pra-eksperimen dan desain penelitian *One-Group Pretest-Posttest Design*. Bahan pemeriksaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum lipemik sejumlah 20, dengan kadar >300 mg/dl. Hasil penelitian dianalisis secara deskriptif dan statistik dengan uji parametrik menggunakan *Paired Sample T-Test*. Rerata selisih kadar kalsium dalam serum lipemik dengan dan tanpa penambahan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C adalah 5,47 mg/dl (30%). Hasil uji *Paired Sample T-Test* menunjukkan signifikan sebesar 0,000 (<0,05). Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan kadar kalsium dalam serum lipemik dengan dan tanpa penambahan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C.

Kata kunci: Kalsium, Gamma-siklodekstrin, Serum Lipemik, Flokulan.

THE DIFFERENCE OF CALCIUM LEVEL IN LIPEMIC SERUM WITH AND WITHOUT ADDITION OF FLOCCULANT GAMMA- CYCLODEXTRIN IN 23 °C INCUBATION

**Rosenadia Fitri Andafi Niranata¹, Sistiyono², Budi Setiawan³,
Poltekkes Kemenkes Yogyakarta
email: rniranata@gmail.com**

ABSTRACT

Lipemic serum is a turbid serum which principally caused by large particles of lipoproteins such as chylomicrons or VLDL (Verry Low Density Lipoprotein), and triglyceride. Thus, it is usually recognized when triglyceride concentrations are above 300 mg/dl. The turbidity interferes in various spectrophotometric assays by light scattering or absorption. These interferences can be removed by flocculation using gamma-cyclodextrin which incubation at 23 °C. The aims of this research were to study the differences of calcium level in lipemic serum with and without addition of flocculant gamma-cyclodextrin with 23 °C incubation. This study was a quantitative research which using pre-experiment method and One-Group Pretest-Posttest Design. The specimen in this study were 20 lipemic serum, which has triglyceride concentrations above 300 mg/dl. The results of the study were analyzed descriptively and statistically with parametric tests using Paired Sample T-Test. The average difference calcium level in lipemic serum with and without addition of gamma-cyclodextrin with 23 °C incubation was 5.47 mg/dl (30%). The results of Paired Sample T-Test showed significant 0.000 (<0.05). From these results, it can be concluded that there are differences calcium levels in lipemic serum with and without the addition of gamma-cyclodextrin with 23 °C incubation.

Keyword: Calsium, Gamma-siklodekstrin, Lipemic Serum, Flocculant.

PENDAHULUAN

Jenis kesalahan pra-analitik sangatlah dipengaruhi oleh kualitas bahan pemeriksaan yang akan dianalisis [3]. Salah satu bahan pemeriksaan yang digunakan dalam pemeriksaan laboratorium adalah serum. Pemeriksaan laboratorium klinik yang menggunakan bahan pemeriksaan berupa serum salah satunya adalah pemeriksaan kadar kalsium. Rentang rujukan untuk kalsium serum adalah 9 sampai 11 mg/dl [13].

Pemeriksaan kalsium dilakukan dengan metode fotometri menggunakan *arsenazo III*. Kalsium dengan *arsenazo III* pada pH netral akan membentuk kompleks berwarna biru yang intensitas warnanya sebanding dengan konsentrasi dari kalsium. Gangguan yang disebabkan oleh magnesium dieliminasi dengan penambahan *8-hydroxyquinoline-5-sulfonic acid* [6]. Salah satu faktor yang mengganggu semua pengukuran fotometrik melalui penyerapan dan penghamburan cahayanya adalah serum lipemik [5].

Lipemia dapat menyebabkan nilai tinggi palsu pada pemeriksaan total kalsium yang dilakukan menggunakan alat ukur otomatis. Sampel darah yang sangat lipemik mungkin memiliki rentang nilai kalsium hingga setinggi 20 mg/dl atau lebih sebagai akibat dari gangguan yang disebabkan oleh kekeruhan [7]. Serum lipemik pada prinsipnya disebabkan oleh partikel besar lipoprotein seperti *chylomicrons* atau *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) dan komponen lipid utama yaitu trigliserida [10].

Serum lipemik dapat ditangani dengan beberapa cara, yaitu melalui pendinginan selama 12 sampai 16 jam, namun cara tersebut tidak dianjurkan karena akan menunda waktu pemeriksaan [13]. Selain itu, metode lain yang dapat dilakukan adalah ekstraksi menggunakan pelarut organik seperti eter dan kloroform

untuk menghilangkan lipid pada serum manusia. Penggunaan pelarut organik sudah jarang dipakai karena bahan ini bersifat karsinogenik yang membahayakan teknisi laboratorium dan lingkungan [4]. Alternatif penghilangan lipid yang populer di laboratorium klinik adalah dengan menggunakan ultrasentrifugasi [14]. Walaupun metode ultrasentrifugasi ini efektif, akan tetapi membutuhkan alat tambahan yang cukup mahal [12].

Siklodekstrin merupakan senyawa alami yang tidak berbahaya dan efektif untuk mengatasi gangguan partikel lipid dalam serum lipemik. Berdasarkan jumlah glukosa yang menyusunnya, siklodekstrin dibedakan atas alfa-siklodekstrin (6 unit glukosa), beta-siklodekstrin (7 unit glukosa) dan gamma-siklodekstrin (8 unit glukosa) [9]. Gamma-siklodekstrin memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks inklusi dengan molekul yang ditahan dalam rongga molekul siklodekstrin [17]. Gamma-siklodekstrin memiliki rongga yang lebih besar sehingga dapat menerima banyak molekul dibandingkan dengan alfa-siklodekstrin dan beta-siklodekstrin [2].

Penelitian Sharma, dkk (1990) menunjukkan tidak ada perbedaan pada pemeriksaan serum lipemik dengan penambahan alfa-sikodekstrin dan metode ultrasentrifugasi [14]. Penelitian Roberts dan Cotten (2013), menyatakan bahwa 78% bahan pemeriksaan dengan penambahan flokulan siklodekstrin menunjukkan tingkat lipemik yang lebih rendah dibanding dengan metode ultrasentrifugasi karena penghilangan lipid pengganggu lebih maksimal [12].

Penelitian Putri (2016), yang berjudul "*Perbedaan Kadar Glukosa pada Serum Lipemik dengan dan Tanpa Penambahan Flokulan Gamma-Siklodekstrin*", menunjukkan serum lipemik terlihat lebih jernih setelah ditambahkan flokulan gamma-siklodekstrin. Terdapat variabel

pengganggu pada penelitian tersebut yaitu suhu [11]. Flokulasi dapat dipengaruhi oleh suhu [8]. Penelitian Ammary (1995), menunjukkan bahwa indeks flokulasi optimum menggunakan polimer kationik (CFTL) terjadi pada suhu 23 °C pada berbagai variasi pH, konsentrasi flokulan, suspensi *kaolin clay* dan kecepatan pengadukan [1].

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji ulang penelitian sebelumnya dengan mengendalikan suhu inkubasi selama flokulasi menggunakan flokulan gamma-siklodekstrin, dengan demikian penggunaan gamma-siklodekstrin yang diinkubasi pada suhu 23 °C dapat digunakan sebagai alternatif dalam penanganan serum lipemik pada pemeriksaan kalsium.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan pendekatan pra-eksperimen. Desain penelitian yang digunakan adalah *One-Group Pretest-Posttest Design* [15]. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta pada bulan Maret hingga April 2017.

Jumlah bahan pemeriksaan dalam penelitian ini sebanyak 20 serum lipemik, yang diperoleh dari RSUP Dr. Sardjito. Serum lipemik yang digunakan adalah serum lipemik dengan kadar trigliserida >300 mg/dl, serta tidak hemolisis dan ikterik. Serum lipemik yang terkumpul dibagi menjadi 2 bagian. Bagian pertama, serum tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C digunakan sebagai kelompok kontrol. Kemudian serum tersebut diperiksa kadar kalsiumnya. Bagian kedua, serum dengan penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C digunakan sebagai kelompok eksperimen. Serum tersebut kemudian ditambah larutan flokulan

gamma-siklodekstrin dengan perbandingan 2 : 1, dengan konsentrasi larutan gamma-siklodekstrin 200 mg/ml (20%). Selanjutnya diinkubasi selama 5 menit pada suhu 23 °C dan dipusingkan selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Memisahkan supernatan yang jernih dan kemudian diperiksa kadar kalsium serum tersebut. Kadar yang diperoleh kemudian dikoreksi dengan dikalikan pengenceran sebanyak 1,5 kali untuk mendapatkan kadar kalsium yang sebenarnya.

Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif, dihitung rerata selisih dan persentase rerata selisih kadar. Kemudian diuji statistik menggunakan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* dan *Paired Sample t-Test*. Data tersebut selanjutnya diuji *Crosstabs* untuk melihat ada tidaknya hubungan selisih rerata kadar dengan tingkat lipemik terhadap penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pengamatan selama penelitian, tingkat lipemik telah dikelompokkan sesuai dengan kadar, warna dan kekeruhan serum lipemik. Serum dengan kadar 300-500 mg/dl dan berwarna putih susu dikelompokkan dalam tingkat lipemik ringan. Sedangkan serum dengan kadar 800-1500 mg/dl atau lebih, berwarna putih susu dan sangat keruh dikelompokkan dalam tingkat lipemik berat.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh selisih rerata kadar kalsium dengan dan tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C sebesar 5,47 mg/dl, dengan persentase selisih kadar sebesar 30%.



Grafik diatas menunjukkan bahwa rerata kadar kalsium tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C lebih tinggi yaitu sebesar 17,78 mg/dl. Hasil pemeriksaan yang diperoleh, selanjutnya dianalisis statistik dengan menggunakan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test*, *Paired Sample T-Test* dan *Crosstabs*.

<i>One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test</i>			
N	P	Nilai Signifikan	Kesimpulan
20	>0,05	0,000	Data berdistribusi normal

Hasil uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* menunjukkan data berdistribusi normal.

<i>Paired Sample T-Test</i>					
	N	Correlation	P	Nilai Signifikan	Kesimpulan
<i>Correlation</i>	20	0,730	<0,05	0,000	Hubungan kuat
<i>T-Test</i>	20	-	<0,05	0,000	Ada perbedaan

Nilai *correlations* (r) pada tabel diatas menyatakan bahwa terdapat hubungan yang kuat dan signifikan antara kadar kalsium pada serum lipemik dengan dan tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C. Nilai r kuadrat sebesar 0,533 (53,3%), sehingga dapat diketahui bahwa 53,3% penurunan kadar dikarenakan penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C sisanya 46,7% disebabkan karena faktor lain, kemungkinan faktor lain tersebut adalah proses pengenceran yang terjadi

akibat penambahan flokulan gamma-siklodekstrin. Selain itu hasil uji *Paired Sample T-test* menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kadar kalsium pada serum lipemik dengan dan tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C.

Hasil penelitian ini menunjukkan selisih penurunan kadar yang bervariasi pada tingkat lipemik ringan dan berat. Oleh karena itu, hasil tersebut selanjutnya dianalisa statistik menggunakan *crosstabs* berdasarkan tingkat lipemik serum.

<i>Crosstabs</i>						
Tingkat Lipemik	Rerata Kadar Kalsium (mg/dl)	Selisih Rerata Kadar (mg/dl)	Persentase Seli (Kadar)	P	Pearson Chi-Square	
Ringan	16,76	11,43	5,33	31	>0,05	0,33
Berat	20,15	14,35	5,80	29		

Hasil Uji *Crosstabs* menunjukkan tidak ada hubungan selisih rerata kadar dengan tingkat lipemik terhadap penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C. Hal ini berarti penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C sebagai alternatif penanganan serum lipemik dapat digunakan pada kedua jenis tingkat lipemik tersebut.

Serum lipemik tanpa penanganan, masih terdapat partikel lipoprotein yang menyebabkan kekeruhan. Kekeruhan tersebut mengganggu berbagai pemeriksaan spektrofotometri dengan menghamburkan cahaya atau absorpsi.

Selain itu, lipemik dapat menyebabkan konsentrasi analit berkurang akibat volume air yang tergantikan oleh komponen lemak dalam serum [16]. Hal inilah yang menyebabkan hasil pemeriksaan menjadi tidak akurat.

Berdasarkan keterangan tersebut, maka diperlukan adanya penanganan terhadap serum lipemik sebelum dilakukan pemeriksaan. Penggunaan flokulan gamma-siklodekstrin dinilai paling efektif untuk mengatasi gangguan partikel lipid dalam serum lipemik. Hal ini diakibatkan karena gamma-siklodekstrin memiliki rongga yang lebih besar dibandingkan dengan alfa-siklodekstrin, sehingga jumlah lipoprotein yang terikat dan mengendap lebih maksimal.

Suhu merupakan salah satu faktor penentu dari keberhasilan flokulasi [18]. Sehingga selama proses flokulasi diperlukan suhu yang optimum agar partikel dapat mengendap secara maksimal. Berdasarkan penelitian Ammary (1995), indeks flokulasi optimum menggunakan polimer kationik (CFTL) terjadi pada suhu 23 °C pada berbagai variasi pH, konsentrasi flokulan, suspensi kaolin clay dan kecepatan pengadukan [1]. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan suhu 23 °C selama inkubasi untuk memaksimalkan proses flokulasi. Sehingga setelah dilakukan proses pemusungan akan diperoleh serum yang lebih jernih.

Kelemahan dari penelitian ini adalah tidak diketahuinya latar belakang penyakit pasien yang mungkin dapat menjadi penyebab tingginya kadar kalsium pada serum lipemik. Keterbatasan dalam memperoleh bahan pemeriksaan menyebabkan ketidakseragaman tingkat lipemik serum serta lama waktu penyimpanan masing-masing serum. Meskipun telah diketahui faktor lain penyebab penurunan kadar sebesar 46,7%, namun besarnya pengaruh pengenceran tidak diketahui secara pasti karena dalam penelitian ini tidak digunakan

pembanding pengenceran berupa akuades. Selain itu suhu inkubasi yang rendah, 23 °C, menyebabkan proses inkubasi pada penelitian ini tidak dapat dilakukan di dalam *waterbath* melainkan menggunakan lemari pendingin. Disamping itu konsentrasi gamma-siklodekstrin yang digunakan pada penelitian ini belum diketahui keefektifannya, sehingga perlu diadakan penelitian lebih lanjut dengan membandingkan berbagai macam variasi konsentrasi.

Berdasarkan hasil penelitian ini, diketahui bahwa serum lipemik tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C memiliki kadar kalsium yang tinggi palsu. Penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C terbukti dapat memaksimalkan proses flokulasi dan mengurangi kekeruhan dalam serum. Metode ini cukup efektif, tidak berbahaya, serta dapat diaplikasikan dengan mudah untuk menangani serum lipemik, sehingga hasil pemeriksaan kadar kalsium menjadi lebih akurat.

KESIMPULAN

1. Rerata kadar kalsium pada serum lipemik tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C adalah 17,78.
2. Rerata kadar kalsium pada serum lipemik dengan penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C adalah 12,31.
3. Selisih rerata kadar kalsium pada serum lipemik dengan dan tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C adalah 5,47 mg/dl (30%).
4. Ada perbedaan kadar kalsium pada serum lipemik dengan dan tanpa penambahan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C.

SARAN

1. Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penambahan gamma-siklodekstrin pada serum lipemik dengan variasi konsentrasi gamma-siklodekstrin, penggunaan serum lipemik dengan tingkat kekeruhan lipemik yang seragam, serta penggunaan pembanding pengenceran.
2. Penggunaan flokulan gamma-siklodekstrin inkubasi suhu 23 °C dapat diterapkan bagi pengelola manajemen laboratorium klinis sebagai alternatif untuk menangani serum lipemik pada pemeriksaan kadar kalsium.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ammary, B.Y. 1995. Flocculation Kinetics Using Dual Coagulants: Effects of Temperature, Addition Sequence, Rapid Mixing, and Sulfate. *Retrospective Theses and Dissertations*. <http://lib.dr.iastate.edu/rtd>. Diunduh pada tanggal 28 Oktober 2016.
- [2] Caligur, V. 2008. Cyclodextrins. *BioFiles* 2008, 3.3, 32 Sigma-Aldrich. <http://www.sigmaaldrich.com/technicaldocuments/articles/biofiles/cyclodextrins>. Diunduh pada tanggal 10 November 2016.
- [3] Calmarza, P dan J. Cordero. 2011. Lipemia interferences in Routine Clinical Biochemical Tests. *Biochemia Medica* Volume 21 Nomor 2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diunduh pada tanggal 10 November 2016.
- [4] Castro, A.R., W.E. Morril, dan V. Pope. 2000. Lipid Removal from Human Serum Samples. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* ASM *Journal* Volume 7 Nomor 2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diunduh pada tanggal 2 November 2016.
- [5] Contois, J.H. dan R.A. Nguyen. 2012. Assay Interference : A Need for Increased Understanding and Testing. *Sun Diagnostic*. www.sundiagnostic.us. Diunduh pada tanggal 2 November 2016.
- [6] Diasys. 2008. *Manual for Calcium*. Germany : DiaSys Diagnostic Systems.
- [7] Feldman, E.C. dan R.W. Nelson. 2004. *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. USA : Elsevier Health Sciences.
- [8] Fitzpatrick, C.S.B., E. Fradin dan J. Gregory. 2004. Temperature effect on flocculation, using different coagulants. *Water Science & Technology* Volume 50 Nomor 12. https://www.researchgate.net/publication/8046502_Temperature_effects_on_flocculation_using_different_coagulant. Diunduh pada tanggal 5 November 2016.
- [9] Laga, A. 2010. Produksi Siklodekstrin dari Subtrat Tapioka dengan Menggunakan Pullulanase dan CGTase secara Simultan. *Jurnal Teknologi Indonesia* Volume 18 Nomor 2. Makassar : Universitas Hasanuddin.
- [10] Piyophiprapong, S., W. Wongtiraoporn dan K. Sribhen. 2010. Factitious Result in Clinical Chemistry Tests Caused by Common Endogenous Interferents.